



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

La metabolómica como herramienta  
para el tratamiento de la depresión

Leire Samaniego Leoz

Directora: María Luisa Bernal Ruiz

Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina  
2016

# Índice

<b>Resumen .....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>3</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>4</b>
1. Las ciencias ómicas .....	4
2. La metabolómica .....	5
2.1. Diseño de un estudio metabolómico .....	6
2.2. Aplicaciones .....	7
3. Análisis metabolómico .....	7
3.1. Espectrometría de masas .....	7
3.2. Espectroscopia por resonancia magnética .....	8
4. La depresión como epidemia .....	8
5. Metabolómica en la depresión .....	11
<b>Objetivo.....</b>	<b>12</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>12</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>12</b>
6. Ensayos con antidepresivos.....	12
6.1. Fluoxetina en astrocitos .....	14
6.2. Paroxetina en ratones .....	16
6.3. Venlafaxina en ratas.....	17
6.4. Fluoxetina en monos resus .....	18
6.5. Escitalopram en humanos .....	21
6.6. Sertralina en humanos .....	21
<b>Discusión .....</b>	<b>28</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>31</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>32</b>

## Resumen

La metabolómica, una de las ciencias ómicas, puede ayudarnos a comprender mejor el mecanismo fisiopatológico de las enfermedades, realizar diagnósticos más precisos e individualizar el tratamiento. El síndrome depresivo mayor es una enfermedad que afecta al 20% de la población en países desarrollados cuyo tratamiento es complejo ya que, además de poseer un gran número de efectos adversos, muchos de los pacientes no responden al tratamiento o responden tan sólo parcialmente. Por ello, la búsqueda de biomarcadores y determinación de un metabotipo para esta enfermedad a través de un enfoque metabolómico podría ayudarnos a realizar un diagnóstico más preciso e individualizar cada tratamiento pudiendo predecir la respuesta de cada paciente al mismo en función de su perfil metabolómico.

## Palabras clave

Metabolómica, metaboloma, serotonina, depresión, antidepresivo

## Abstract

Metabolomics, one of the omic sciences, could be useful for a better understanding of the physiopathological mechanism of diseases, making more accurate diagnosis and individualizing treatment. 20% of the population in developed countries suffers from Major Depressive Disease, whose treatment is really complex because it has a large number of side effects and most of the patients don't respond to the treatment or they do it partially. A metabolomic approach will enable us to find biomarkers and determine a metabotype pretreatment that could help us provide an individualized diagnosis and treatment and predict the answer to psychoactive drugs.

## Keywords

Metabolomics, metabolome, serotonin, depression, antidepressant

# Introducción

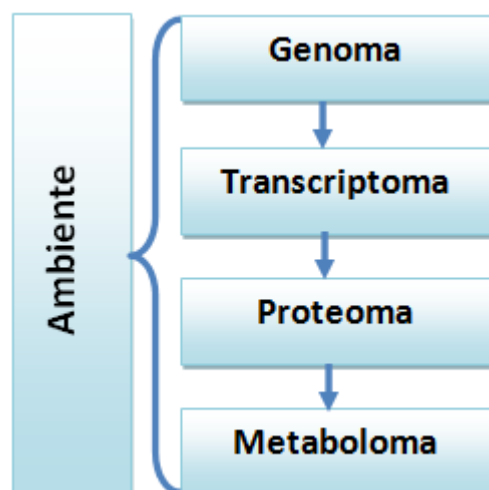
## 1. Las ciencias ómicas

Las ciencias ómicas han supuesto una revolución en la investigación biológica. Las investigaciones destinadas a elucidar los factores y mecanismos asociados a la aparición de enfermedades se han visto enormemente reforzadas gracias a la aparición de nuevas tecnologías que nos permiten obtener información cada vez mucho más exacta y detallada del funcionamiento de los organismos vivos.<sup>1</sup>

Una de las ventajas de las ciencias ómicas es que son ciencias no invasivas que se fundamentan en el estudio de muestras biológicas de fácil obtención. En ellas, a través de una muestra biológica muy pequeña podemos obtener una cantidad de información inmensa.<sup>2</sup>

Dentro de estas nuevas ciencias, llamadas “ómicas”, la más desarrollada y conocida hasta el momento es la genómica. Sin embargo, sabemos que los factores genéticos no son los únicos responsables de las enfermedades, sino que los factores ambientales y el estilo de vida determinan de una u otra manera el fenotipo que expresa cada persona u organismo. Es por esto, que nuevas ciencias complementarias a esta han ido emergiendo, las cuales se complementan entre sí.<sup>1</sup>

Los principales campos que podemos distinguir son la genómica, la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica, sin embargo, existen muchos más campos de investigación en esta línea. De esta manera, podríamos decir que la genómica sería lo que puede pasar; la transcriptómica lo que parece que está ocurriendo; la proteómica lo que hace que ocurra y la metabolómica lo que realmente está ocurriendo. Viéndolo de esta manera, la metabolómica sería la expresión última del fenotipo de un individuo, mostrando la información concreta e individual de una persona u organismo en un momento dado y bajo unas circunstancias concretas.<sup>1</sup>



**Figura 1:** Relación entre las ciencias ómicas y de estas con el ambiente.<sup>3</sup>

## 2. La metabolómica

La metabolómica supone el último escalón de las ciencias ómicas, es aquella que mide la expresión última del fenotipo de un ser vivo a través del análisis de muestras biológicas (suero, plasma, orina, tejidos...) midiendo pequeñas moléculas que son el producto metabólico último de cualquiera de los procesos que se producen dentro del organismo.<sup>1</sup> Por ello podríamos decir que la metabolómica supone la medida tanto cualitativa como cuantitativa de la respuesta dinámica de un organismo a un estímulo.<sup>4</sup>

La metabolómica basa su estudio en la identificación de los sustratos y productos metabólicos que se producen en el cuerpo a través de los diferentes cambios bioquímicos producidos en este.<sup>5</sup> De esta manera consideramos el metaboloma como el perfil metabólico de un estado fisiológico en un momento y sistema (célula, tejido, organismo...) concreto entendiendo la metabolómica como el retrato dinámico del estado de un ser vivo.<sup>2,5</sup>

A diferencia de otras ciencias ómicas, la metabolómica ofrece cambios rápidos y representativos de la respuesta final de un organismo a estímulos tanto internos como externos. Es por esto que la aplicación de esta nueva ciencia puede tener un papel fundamental en dilucidar los cambios fisiopatológicos y procesos afectados en la aparición de enfermedades.<sup>6</sup> De esta modo pretende descubrir nuevos caminos bioquímicos que se encuentren implicados en los cambios biológicos del cuerpo humano, y que a su vez puedan servirnos como biomarcadores para diferentes enfermedades<sup>5</sup> ya que estos metabolitos que medimos sirven de señales inequívocas y específicas de los diferentes procesos celulares.<sup>2</sup>

El concepto central de la metabolómica reside en que el estado metabólico de un individuo refleja el estado de salud global de ese individuo. La metabolómica representa la interacción entre la secuencia genética y la expresión genética, proteica y del ambiente celular completo. Es decir, recoge la expresión fenotípica de un individuo.<sup>7</sup>

La metabolómica puede ser de gran valor en los siguientes casos:

- Pronóstico, diagnóstico y marcadores de la enfermedad
- Habilidades para subclasificar la enfermedad
- Biomarcadores de respuesta a fármacos
- Determinación de fenotipos y estratificación de pacientes
- Información sobre los mecanismos de enfermedad<sup>7</sup>

A pesar de que actualmente hay fármacos para tratar de manera efectiva un gran número de enfermedades, sigue existiendo un grupo de pacientes que no responde o bien sufre reacciones adversas graves. Teniendo en cuenta esta variabilidad interpersonal, la metabolómica busca la individualización de los tratamientos. De ahí que la farmacometabolómica estudie el estado de un individuo concreto en su ambiente genético y

microbiótico para determinar señales al comienzo del tratamiento y tras el mismo con el fin de identificar diferencias que hayan podido ser inducidas por los fármacos.<sup>3</sup>

Gracias a la metabolómica es posible identificar caminos metabólicos involucrados en la eficacia y la respuesta farmacológica así como sobre las reacciones adversas, ya que, si consideramos el metabotipo la huella metabólica de un paciente, una muestra única e individual de un paciente nos revelará información sobre la respuesta farmacológica y la heterogeneidad de la enfermedad.<sup>3</sup>

En contraste con los acercamientos clásicos desde la bioquímica que centraban su estudio en un único metabolito y las reacciones y cinética de éste, la metabolómica toma datos cuantitativos de un conjunto de metabolitos mucho más amplio con intención de obtener una imagen global del ambiente completo del metabolismo asociado a la condición a estudiar.<sup>3</sup> Esto nos lleva a distinguir dos tipos de estudios, los estudios metabolómicos sin blanco que pretenden comprender el conjunto completo de componentes químicos de la muestra y los estudios con blancos que nos permiten cuantificar determinados metabolitos concretos.<sup>8</sup>

Los estudios realizados con blancos miden una serie de metabolitos concretos (metabolitos diana) dentro de una clase o vías metabólicas y son típicamente usados para la comprobación de hipótesis mientras que los estudios sin blancos se utilizan típicamente para la generación de hipótesis y miden un número de metabolitos mucho más amplio.<sup>3</sup>

Idealmente, la metabolómica nos permitirá construir un mapa detallado de la regulación de las vías metabólicas y de la interacción de las proteínas codificadas a partir del genoma junto con los factores ambientales (entre los cuales se incluye el tratamiento farmacológico). El metaboloma representa, por tanto, el estado de un individuo en un punto concreto del tiempo o tras una exposición a un estímulo.<sup>3</sup>

## 2.1. Diseño de un estudio metabolómico

### Es importante:

- **Elegir la muestra a estudiar:** lo primero que deberemos hacer es definir qué tipo de muestras vamos a tomar, de forma que sean más adecuadas al tipo de estudio que vamos a realizar. Por ejemplo, si vamos a tomar muestras de plasma, orina...<sup>3</sup>
- **Elegir la plataforma con la que lo estudiaremos:** deberemos decidir si lo realizamos mediante espectrometría de masas o de resonancia magnética, qué tipo de cromatografía usaremos... Además, podremos llevar a cabo estudios con blancos o sin ellos. Al principio es aconsejable utilizar diferentes métodos de análisis complementarios para conseguir la cobertura bioquímica más amplia posible, ya que pueden aparecer resultados inesperados. Esto puede llevarnos en el futuro a un estudio con objetivos (metabolitos diana) basado en el estudio inicial.<sup>3</sup>

## 2.2. Aplicaciones

Las marcas que identificamos y que constituyen la principal aplicación de la metabolómica en la medicina incluyen:

- Diferencias entre los metabotipos iniciales entre respondedores y no respondedores a un determinado fármaco
- Señales iniciales que se puedan relacionar con fenotipos para determinar la respuesta o los posibles efectos adversos
- Cambios metabólicos observados tras el tratamiento
- Vías metabólicas implicadas en la variación de respuesta a los fármacos<sup>3</sup>

## 3. Análisis metabolómico

En la metabolómica, la preparación de la muestra y su análisis es una parte muy importante del proceso, ya que dependiendo del tipo de metabolitos que queramos estudiar, deberemos realizar un tipo de análisis y preparación u otro. Lo más importante a la hora de preparar las muestras es asegurarnos de que estas han sido obtenidas a través de un procedimiento estandarizado de manera que obtengamos la misma instantánea metabolómica en toda la muestra estudiada. Esto es importante ya que dada la gran fluctuación dentro de los productos del metabolismo, un perfil metabólico puede cambiar significativa y rápidamente cuando se ve expuesto a un estímulo ambiental aunque este sea de carácter leve.<sup>5</sup>

Entre los métodos de análisis podemos distinguir dos grandes grupos, la espectrometría de masas y la espectroscopia por resonancia magnética:

### 3.1. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas nos puede proporcionar un análisis metabolómico con blancos o bien uno a gran escala. Esta técnica se ha convertido en una herramienta indispensable en la metabolómica. Normalmente se combina con tres tipos de métodos de prefraccionamiento: cromatografía de gases (GC), electroforesis capilar (CE) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).<sup>5</sup>

El análisis mediante la cromatografía gaseosa nos ofrece una alta sensibilidad, sin embargo, tiene la limitación de que los componentes deben ser volátiles, para lo cual a través del procesado de la muestra y la derivación química podemos conseguir que un gran número de componentes de la orina o el plasma sean volatilizados y analizados mediante cromatografía de gases.<sup>3</sup>

La combinación de espectrometría de masas con cromatografía líquida nos provee de un acercamiento analítico excelente para los fluidos biológicos ya que nos permite analizar y separar los compuestos polares y no volátiles sin necesidad de la derivación química. La principal limitación de la cromatografía líquida surge por su baja resolución en comparación con la gaseosa. Sin embargo, el desarrollo reciente de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) la ha mejorado significativamente.<sup>3</sup>

### **3.2. Espectroscopia por resonancia magnética**

La espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN) consiste en la absorción y re-emisión de radiación electromagnética por un núcleo atómico dentro de un campo magnético. Las moléculas son tratadas aquí como metabolitos y dejan una huella metabólica determinada que nos permite identificarla y cuantificarla de un modo no destructivo, llevando a cabo estudios sin blancos a gran escala.<sup>5</sup>

La RMN es aplicable al análisis de biofluidos, extractos celulares o tejidos y no requiere de preparación de la muestra, lo cual supone una gran ventaja.<sup>3</sup> El método habitual para el análisis metabolómico es la utilización de RMN de protones (<sup>1</sup>H-RMN)<sup>5</sup>, una técnica altamente efectiva para la elucidación estructural aunque no es tan sensible como la espectrometría de masas.<sup>3</sup>

La espectroscopia por RMN nos puede proveer de una visión más amplia, detectando un mayor número de metabolitos, mientras que la espectrometría de masas nos permite una identificación y evaluación de metabolitos en concentraciones más bajas. En definitiva, la elección de una técnica u otra dependerá de los recursos que tengamos disponibles a nuestro alcance y de la técnica que más se adapte al tipo de estudio que queramos realizar.<sup>3</sup>

## **4. La depresión como epidemia**

Los trastornos depresivos afectan a 350 millones de personas diagnosticadas en todo el mundo. La depresión tiene una prevalencia de alrededor del 20% y es la segunda mayor causa de enfermedad en los países industrializados<sup>9</sup> ya que a pesar de que puede afectar a personas de todo el planeta, los factores culturales juegan un papel muy importante en el desarrollo de esta patología y aumenta su riesgo.<sup>10</sup>

Hasta un 20% de las personas adultas sufrirán un episodio de depresión a lo largo de su vida,<sup>10</sup> siendo además el suicidio más frecuente en este en estos pacientes.<sup>3</sup> El instituto nacional de la salud (NIH) estima que el 60% de las personas que se suicidan padecen de síndrome depresivo mayor o algún otro trastorno de tipo depresivo. Además, la organización nacional de la salud (OMS) ha predicho que para el 2030 la depresión será la principal causa de incapacidad a nivel mundial.<sup>5</sup>



Esta enfermedad es más prevalente en las mujeres que en los hombres, especialmente tras experimentar eventos personales negativos como la muerte cercana de un familiar, un mal ambiente familiar, divorcio, etc.<sup>10</sup> Entre los síntomas principales de la depresión se encuentran la tristeza, la anhedonia, el insomnio, niveles bajos de concentración, pérdida de memoria... También pueden existir pensamientos de muerte o suicidio. Además, en los pacientes que sufren este trastorno se observa un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, así como de osteoporosis y diabetes y se encuentra relacionada con el consumo de tabaco y de alcohol.<sup>10</sup>

Estudios llevados a cabo con gemelos han mostrado una heredabilidad desde hasta un 50% y estudios con familiares de primer grado han mostrado un aumento de entre 2 y 3 veces del riesgo de sufrir depresión. Sin embargo, a pesar de que estos estudios familiares han demostrado la importancia de la genética, esta enfermedad está relacionada en gran medida con el ambiente y los factores externos, principalmente el estrés.<sup>10</sup>

El estrés es la principal causa de la aparición de la depresión, de hecho, parece ser el punto de partida de casi todos los pacientes, junto con un conjunto de genes que les convierten en pacientes más vulnerables.<sup>10</sup> Este afecta a las funciones biológicas produciendo inestabilidad y fallos bioquímicos y biológicos, pudiendo desarrollar desde alteraciones en el sistema inmune hasta la precipitación de enfermedades psiquiátricas.<sup>11</sup>

Estudios neurológicos han demostrado que el estrés y la ansiedad juegan un papel muy importante en la precipitación de este tipo de cuadros. También los factores ambientales, tales como la malnutrición, la falta de vitaminas o el consumo elevado de alcohol y tabaco parecen activar una serie de cambios epigenéticos que precipitan este cuadro.<sup>10</sup>

A nivel del sistema nervioso central (SNC) se ha observado una pérdida de neuronas en el hipocampo de algunos pacientes deprimidos, lo cual se ha relacionado con un humor distímico y una memoria disminuida. Además esto se acompaña de una disminución del tamaño de la amígdala en paciente deprimidos. El circuito formado por la amígdala y el hipocampo no juega un papel importante tan sólo en la regulación del estado de ánimo, sino también en el aprendizaje y los procesos relacionados con la memoria conceptual. Estas estructuras tienen conexiones recíprocas con áreas del sistema cortical paralímbico y la corteza prefrontal ventromedial, que tienen un papel importante en la toma de decisiones y la inhibición de la respuesta emocional.<sup>10</sup>

Hay muchas teorías sobre la etiología de la depresión, pero la clásicamente aceptada es la hipótesis monoamina que asume que los neurotransmisores serotonina y noradrenalina no son producidos en cantidad suficiente en el cerebro de las personas afectas.<sup>9</sup> A pesar de que la deficiencia de monoaminas es la hipótesis más comúnmente conocida sobre los desordenes del ánimo, estudios recientes postulan la existencia de influencia también por parte del sistema glutamatérgico.<sup>12</sup>

El trastorno depresivo está relacionado con el aumento o la disminución de neurotransmisores, entre los cuales se incluyen la serotonina, la noradrenalina y la dopamina. La serotonina se encuentra relacionada con la ansiedad, las obsesiones y las compulsiones. La noradrenalina se relaciona con el estado de alerta, la ansiedad y los intereses. La dopamina por su parte, es un neurotransmisor relacionado principalmente con la atención, la motivación y la recompensa. La disregulación de estos tres neurotransmisores está estrechamente relacionada con los trastornos depresivos. Además, algunos estudios demuestran que la disminución de los niveles de tirosina, el precursor de la dopamina, en plasma y en el líquido cefalorraquídeo se encuentra más bajo en pacientes deprimidos que en aquellos sanos.<sup>10</sup>

La serotonina es un neurotransmisor importante en la regulación de múltiples sistemas fisiológicos, incluyendo el sistema cardiovascular, pulmonar, gastrointestinal, genitourinario y el sistema nervioso central. Regula procesos neurofisiológicos tan variados como la percepción dolorosa, los ritmos circadianos, el sueño, la memoria, el estrés o las adicciones.<sup>6</sup>

Hace ya 4 décadas comenzó a postularse esta idea de que la depresión se debía al déficit de neurotransmisores (NT) monoamina en las sinapsis del SNC. Debido a ello los primeros fármacos antidepresivos inhibían la monoamino oxidasa, una enzima catabolizadora de estos NT. Éstos eran bastante efectivos, pero tenían serios efectos secundarios.<sup>3</sup>

El descubrimiento de que el efecto de NT como la serotonina y las catecolaminas se veía afectado por la recaptación de las mismas a través de la membrana neuronal, condujo al desarrollo de fármacos que inhibieran este proceso, surgiendo así los antidepresivos tricíclicos, que inhibían más o menos de manera específica la recaptación de la noradrenalina. Sin embargo, tenían un gran número de efectos adversos y su sobredosis podía ser letal.<sup>3</sup>

Finalmente se desarrollaron los inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS), que se han convertido en el tratamiento habitual de la depresión. Sin embargo, la respuesta a estos fármacos varía ampliamente, existiendo un 40% de pacientes no respondedores y hasta un 60% en los que no remite completamente la enfermedad.<sup>3,7</sup> Además, la mayoría de los tratamientos para la depresión no ejercen su acción hasta unas semanas (entre 4 y 6) después de comenzar el tratamiento, lo cual retrasa el saber si el paciente responde a la medicación o no.<sup>7,12</sup>

## 5. Metabolómica en la depresión

Los mecanismos moleculares de la depresión continúan siendo desconocidos a día de hoy, sin embargo, los nuevos estudios ómicos pueden ofrecernos nueva información y enfoques de esta enfermedad y su base biofisiopatológica.<sup>5</sup>

Las ciencias ómicas han surgido como estrategias complementarias a la genómica para comprender las diferentes patologías existentes en humanos. Si bien, para el estudio del síndrome depresivo mayor surgió antes el desarrollo de la proteómica que de la metabolómica, hoy en día este último está siendo ampliamente desarrollado.<sup>5</sup>

La aplicación de la metabolómica a la depresión puede y debe hacerse para entender mejor sus mecanismos moleculares, así como para identificar biomarcadores para la enfermedad en cuanto a pronóstico, diagnóstico, tratamiento y estratificación de pacientes.<sup>5</sup> La determinación de biomarcadores de vías metabólicas en los diferentes fluidos orgánicos supondría un gran avance respecto al conocimiento de la enfermedad y será de gran utilidad para el diagnóstico, la determinación de la supervivencia, la detección precoz de recidivas y la toma de decisiones terapéuticas en el futuro.<sup>8</sup>

Actualmente ya se han realizado algunos estudios con el fin de determinar los diferentes perfiles metabólicos que podrían definir a los pacientes con depresión de manera que se pudiera predecir la respuesta al tratamiento incluso antes de administrárselo.<sup>7</sup> Esto supone un gran reto en la psiquiatría ya que los principales tratamientos antidepresivos tienen una eficacia muy baja, siendo hasta el 40% de los pacientes no respondedores a las terapias, a lo cual se añade su gran número de efectos secundarios.<sup>5</sup> Además, a lo anterior debemos sumar que la amplia respuesta a placebo (entre el 30 y 40% de pacientes) añade un nuevo grado de dificultad, ya que desconocemos los mecanismos subyacentes a este fenómeno.<sup>7,12</sup>

Otro de los principales objetivos en los estudios farmacometabólicos es encontrar un fenotipo para respondedores a través de un perfil metabolómico pretratamiento que pueda predecir la respuesta del paciente a los fármacos.<sup>3</sup> De esta manera, la determinación de unos metabolitos pretratamiento podrían sernos de ayuda para determinar qué pacientes responderán al tratamiento agudo (4 semanas) evitando así administrar fármacos que sabemos no van a producir la respuesta esperada en nuestro paciente.<sup>7</sup>

Mapear las vías bioquímicas que se modifican en una enfermedad, así como sus modificaciones tras un tratamiento, pueden proporcionarnos conocimientos más profundos de los mecanismos de la enfermedad, ayudarnos a descubrir nuevos biomarcadores, comprender la progresión de la enfermedad y predecir la respuesta al tratamiento. Esto podría ser útil para ajustar e individualizar la selección del tratamiento, minimizar la polifarmacia y reducir el ensayo-y-error en cuanto a la selección de los antidepresivos se refiere (ya que estos tardan entre 2 y 4 semanas en comenzar a hacer su efecto).<sup>7</sup>

## Objetivo

Tras reunir esta información, hemos establecido que el objetivo de este trabajo sea realizar una revisión bibliográfica con el fin de aunar los conocimientos existentes entre el síndrome depresivo mayor y la respuesta al tratamiento mediante el análisis del metaboloma.

## Material y métodos

Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica a través de la plataforma PubMed, en la cual se introdujeron las siguientes búsquedas, obteniéndose los siguientes resultados:

- Metabolomics and serotonin: 70
- Metabolome and serotonin: 37
- Metabolomics and depression: 99
- Metabolomics and antidepressant: 97

El tema propuesto es de gran importancia, y aunque actualmente su desarrollo está en auge, aún no hay mucha información sobre ello. Para cumplir el objetivo propuesto, la revisión bibliográfica se ha realizado en los estudios basados, principalmente, en la investigación de fármacos antidepresivos y farmacometabolómica, revisándose un total de 38 artículos.

## Resultados

### 6. Ensayos con antidepresivos

Para comprender mejor los cambios que se producen tras la administración de tratamientos antidepresivos y por qué podría producirse la variabilidad en la respuesta a los mismos, se están llevando a cabo estudios con fármacos antidepresivos donde se incluye el análisis metabolómico. De esta manera se pretende observar los cambios que se producen en relación con la respuesta al tratamiento.

En principio, para poder comprender mejor los resultados de estos estudios, es necesario conocer algunas de las vías metabólicas que forman parte de la regulación del sistema nervioso central así como sus diferentes compuestos (Tabla 1).

Vías metabólica	Metabolitos	Abreviatura
Triptófano	3-Hidroxikinurenina	3-OHKY
	Ácido 5-Hidroxiindoleacético	5-HIAA
	5-Hidroxitriptofano	5-HTTP
	N-Acetilserotonina	NA-5-HT
	Ácido antranílico	ANA
	Ácido 3-indolacético	Acid I-3-LA
	Ácido indolacético	IAA
	5-Metoxitriptamina	5-MTPM
	Melatonina	MEL
	Serotonina	5-HT
	Triptofano	TRP
	5-Metoxitriptofol	5-MTPOL
	Triptofol	TRPOL
	Kinurenina	KYN
Tirosina	3-O-metildopa	3-OMD
	Ácido 4-Hidroxifenilacético	4-HPAC
	Ácido 3,4-Dihidroxifenilacético	DOPAC
	Ácido 3,4-Dihidroxi mandélico	DIOHMAL
	Ácido Homogentístico	HGA
	Ácido Homovanílico	HVA
	L-DOPA	LD
	Metoxihidroxifenilglicol	MHPG
	Tirosine	TYR
	Ácido Vanililmandélico	VMA
Fenilalanina	Ácido 2-hidroxifenilacético	2-HPAC
	Ácido 4-hidroxiberoico	4-HBAC
	Ácido 4-hidroxifenil láctico	4-HPLA
Purina	7-Metilxantina	7-MXAN
	Guanosina	GR
	Guanosina monofosfato	GRMP
	Hipoxantina	HX
	Ácido úrico	UA
	Xantina	XAN
	Xantosina	XANTH
Cisteína, glutatión	Glutatión (reducido)	GSH
	Cisteína	CYS
Antioxidantes	Delta-tocoferol	DTOCO
	Alfa-tocoferol	ATOCO
	Tocoferol	TOCO
	Gamma-tocoferol	GTOCO
Metabolismo monocarbonado	Metionina	METH
Otros	Ácido vanílico	VANA

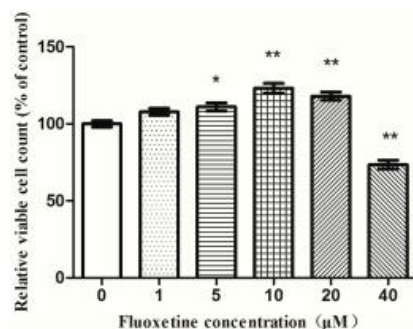
**Tabla 1:** vías metabólicas y metabolitos relacionados con la regulación y la actividad del Sistema Nervioso Central.<sup>7</sup>

## 6.1. Fluoxetina en astrocitos

Las astrocitos constituyen una parte primordial de las células del SNC y cumplen funciones importantes tales como la neurotransmisión y la plasticidad sináptica.<sup>13,14</sup> Se ha visto que el tamaño y densidad de los astrocitos en la depresión se encuentra disminuido.<sup>15</sup> Por el contrario observamos que la fluoxetina, un inhibidor de la recaptación de serotonina (ISRS), ha demostrado producir un aumento en la expresión de factores del crecimiento y neurotróficos en los astrocitos corticales, así como promover la plasticidad sináptica.<sup>16</sup>

En 2015, Bai S. y col. llevaron a cabo un estudio en cultivos de astrocitos extraídos de cerebro de rata y se analizaron a través de GC/LC-MS (cromatografía de gases o líquida y espectrometría de masas) con <sup>1</sup>H-RMN (resonancia magnética nuclear de protones) tras la administración de fluoxetina a diferentes dosis durante 24 horas.<sup>17</sup>

Tras este análisis con <sup>1</sup>H-RMN observaron que los principales cambios se producían a la dosis de 10  $\mu$ M, en el que el volumen de aumento celular fue del 23,1%. También se produjo aumento en la proliferación celular a las dosis de 5  $\mu$ M y 20  $\mu$ M, mientras que a 40  $\mu$ M esta proliferación disminuyó, por lo que dedujeron que el efecto de la fluoxetina a partir de determinadas concentraciones deja de ser dosis-dependiente (Figura 2).<sup>17</sup>



**Figura 2:** relación entre las dosis de fluoxetina administradas en astrocitos de ratas y el cambio observado en el recuento celular de los astrocitos.

Tras el análisis metabolómico de la muestra se observaron cambios significativos en 17 metabolitos en los astrocitos tratados con fluoxetina respecto al grupo control (Tabla 2). Estos metabolitos se encuentran principalmente involucrados con los lípidos y su metabolismo, así como con los aminoácidos.<sup>17</sup>

En este estudio se observó un aumento generalizado de los metabolitos lipídicos, excepto por el HDL, que disminuyó. El colesterol es un componente esencial de la sinaptogénesis y el crecimiento de la mielina<sup>18,19</sup> por lo que el funcionamiento normal y la estabilidad de las sinapsis es particularmente sensible a los cambios en los niveles de colesterol en los astrocitos, de hecho, existen algunos estudios que sugieren la relación entre los niveles de colesterol y la depresión.<sup>20</sup>

En este estudio también se encontraron alteradas otras moléculas relacionadas con el metabolismo lipídico, como la alfa-glucosa, beta-glucosa y creatinina, apareciendo niveles de glucosa más bajos en los tratados con fluoxetina, lo cual puede promover la lipogénesis y el aumento de colesterol en los astrocitos.<sup>17</sup>

	Aumento	Descenso
Fluoxetina 10 $\mu$ M	Glicerol	Alfa-glucosa
	Lípidos	Beta-glucosa
	LDL	Creatinina
	VLDL	Glicoproteína
	Tirosina	HDL
	Lisina	Isoleucina
		Asparagina
		Metionina
		Etanolamina
		Metilamina
		Trimetilamina N-óxido

**Tabla 2:** cambios observados tras el tratamiento con fluoxetina en cultivos de astrocitos de ratas a 10  $\mu$ M.<sup>17</sup>

El metabolismo de los aminoácidos es complicado ya que contribuyen en su homeostasis a la proteólisis, la gluconeogénesis y el catabolismo oxidativo. La regulación descendente en los aminoácidos isoleucina, asparagina y metionina contribuyen a estimular la gluconeogénesis en los astrocitos. Sin embargo, esto se ve acompañado de un aumento de la lisina y la tirosina.<sup>17</sup>

Estudios previos relacionados con los cambios en aminoácidos han demostrado que el déficit alimentario de lisina produce un aumento de la ansiedad en ratas,<sup>21,22</sup> mientras que la suplementación con lisina ha demostrado reducir la ansiedad en humanos.<sup>23</sup> Es por ello que el aumento de lisina en el tratamiento con fluoxetina parece tener un efecto positivo en los niveles de esta en astrocitos.<sup>17</sup>

En el laboratorio se ha demostrado que el descenso de tirosina en ratas produce estrés,<sup>24</sup> lo cual concuerda con estudios llevados a cabo en humanos en los que el descenso de los niveles de tirosina se relacionaban con estados depresivos.<sup>25,26</sup> Por ello el aumento de tirosina en los astrocitos podría ser una señal de que la fluoxetina modula estos niveles regulando el ánimo a través de un mecanismo asociado a la tirosina.<sup>17</sup>

De este estudio se podría extraer la conclusión de que la fluoxetina está implicada en vías metabólicas relacionadas con la energía, la glucosa y el metabolismo lipídico, de lo cual se deduce que su acción antidepresiva, además de producirse por el aumento de los niveles de serotonina en la sinapsis, podría estar mediada por la regulación del metabolismo de los lípidos y los aminoácidos.<sup>17</sup>

## 6.2. Paroxetina en ratones

En 2013, Webhoger C. y col. llevaron a cabo un estudio en ratones. A estos les administraron paroxetina, otro ISRS, o placebo dos veces al día durante 24 días. Los tejidos biológicos estudiados fueron el plasma y el tejido del hipocampo y la técnica utilizada fue LC-MS/MS.<sup>27</sup>

En el estudio metabolómico se observaron 92 metabolitos significativamente alterados. De los cuales 17 se encontraron aumentados y 75 disminuidos. Sin embargo, como muchos de ellos pertenecían a la misma vía metabólica, se agruparon en clusters en función de esta (Tabla 3).<sup>27</sup>

	Aumento	Disminución
<b>Paroxetina</b>	Glucolisis aerobia:	Ciclo de Krebs:
	3P-gliceraldehído	Citrato
	3P-glicerato	2-oxogutarato
	1,6PP-fructosa	Tiamin difosfato
	1P-glucosa	Succinato
	6P-glucosa	Fumarato
	6P-fructosa	(s)-Malato
	Energía: Ratio ATP/ADP (p<0,05)	Redox: ratio NAD/NADH (p<0,10)
		Glucolisis: lactato deshidrogenasa

**Tabla 3:** principales cambios observados tras el tratamiento con paroxetina en ratas agrupados en función del cluster al que fueron asignados según la vía metabólica a la que pertenecían.<sup>27</sup>

Tras el análisis de los metabolitos alterados y su organización en función de la ruta metabólica en la que estuvieran implicados, se observó un aumento en aquellos relacionados con la glucólisis aerobia, lo cual contrasta con un descenso de los mediadores del ciclo de Krebs.<sup>27</sup>

Entre de los metabolitos relacionados con la glucolisis aerobia, el que más descató fue el 3P-gliceraldehído, en el cuál vieron un aumento de hasta 5 veces su valor normal.<sup>27</sup> Como ya sabemos, niveles aumentados de glucolisis facilitan la neurogénesis, esto es necesario para que se produzcan los efectos antidepresivos, lo cual podría tener relación con la acción de la paroxetina.<sup>28</sup>

La única enzima que aparece alterada en relación con la glucólisis y el ciclo de Krebs es la lactato deshidrogenasa (LDH), que se encuentra disminuida. Este descenso puede explicar por qué a pesar de verse aumentados los metabolitos de la glucolisis, no vemos una alteración de los niveles de lactato.<sup>27</sup>



El tratamiento con paroxetina también ha mostrado un aumento de niveles de energía y alteraciones del estado redox. Estos cambios se produjeron al final del tratamiento, lo cual podría explicar el retraso en la aparición de efectos terapéuticos.<sup>27</sup>

En este estudio se muestra que el cambio del metabolismo energético hacia la glucólisis aeróbica puede ser una parte clave de una rápida y efectiva respuesta al tratamiento antidepresivo con paroxetina.<sup>27</sup>

### 6.3. Venlafaxina en ratas

La venlafaxina es un antidepresivo nuevo cuya acción es inhibir la recaptación de serotonina (5HT), noradrenalina (NA) y de manera más leve la dopamina (DA). Este fármaco fue el primero en inhibir la recaptación de 5HT y NA al mismo tiempo, de esta manera, se está convirtiendo en una de las primeras opciones para el tratamiento de la depresión.<sup>9</sup>

En 2013, Fenli S. y col. pretendieron determinar el comportamiento de los neurotransmisores monoamina mediante un modelo en ratas a las que administraron tratamiento con venlafaxina durante 15 días. En la realización del estudio se determinaron 6 grupos diferentes de tratamiento administrándoles a cada uno de ellos diferentes dosis de venlafaxina o placebo e incluso a uno de ellos fluoxetina. El análisis de las muestras se llevó a cabo a través de LC-MS/MS en el tejido cerebral de las ratas, encontrándose que en el grupo control los niveles de serotonina disminuyeron de manera significativa en relación al resto de grupos. El resto de alteraciones se recogen en las tabla 4 y 5.<sup>9</sup>

Los principales cambios se presentaron en aquellos tratados a dosis media o alta de venlafaxina. A dosis media aumentaron el 5HT y NA y a dosis alta el 5HT y el 5HIAA de manera significativa en ambos casos. En contraste, el 5HIAA disminuyó a dosis media.<sup>9</sup>

	<b>Aumento</b>	<b>Descenso</b>
<b>Dosis media de venlafaxina</b>	<b>5-HT</b> <b>NA</b> DA	<b>5-HIAA</b> MHPG DOPAC HVA
<b>Dosis alta de venlafaxina</b>	<b>5-HT</b> <b>5-HIAA</b> <b>NA</b>	DA MHPG DOPAC GVA

**Tabla 4:** alteraciones observadas en ratas tras el tratamiento con venlafaxina a dosis media (16mg/kg<sup>-1</sup>) y alta (32mg/kg<sup>-1</sup>) durante 4 semanas. En negrita se marcan los resultados con p<0,05.<sup>9</sup>

	Aumento	Descenso
Dosis media de venlafaxina	-	5HIAA/5HT MHPG/NA (DOPAC+HVA)/DA NA/5HT
Dosis alta de venlafaxina	-	MHPG/NA 5HIAA/5HT NA/5HT
Fluoxetina	-	5HIAA/5HT

**Tabla 5:** cambios observados en ratas tras el tratamiento con dosis media (16mg/kg<sup>-1</sup>) y alta (32mg/kg<sup>-1</sup>) de venlafaxina y con fluoxetina (2mg/kg<sup>-1</sup>) a las 4 semanas.<sup>9</sup>

Al comparar el grupo control con el tratado a dosis bajas no se encontraron diferencias significativas y tras el análisis del grupo tratado con fluoxetina tampoco se encontraron diferencias significativas para ningún neurotransmisor. Es por esto que los resultados del grupo a dosis bajas de venlafaxina y el de fluoxetina se superponen con el grupo control.<sup>9</sup>

La hipótesis monoamina dice que dos NT (serotonina y noradrenalina) no se producen en cantidades suficientes en el cerebro de una persona depresiva. De esta manera este estudio con ratas muestra un aumento significativo de los niveles de 5HT y NA en el cerebro a dosis media y alta de venlafaxina, especialmente media, pudiendo estar estos cambios relacionados con la respuesta al tratamiento y siendo este aumento mayor que el observado con el ISRS fluoxetina bajo las mismas condiciones experimentales.<sup>9</sup>

#### 6.4. Fluoxetina en monos resus

En el año 2014 He Y. y col. llevaron a cabo un estudio en 32 monos jóvenes (de 1 año edad) a los que se les administró fluoxetina durante 1 año. Estos monos fueron divididos en dos subgrupos según un poliformismo para la enzima MAO-A; aquellos que poseían una enzima de alta actividad o de baja actividad. Las muestras biológicas estudiadas fueron el LCR y la plasma.<sup>12</sup>

Las MAO (monoamino oxidasas) son enzimas que catalizan la oxidación de monoaminas y la degradación de neurotransmisores aminas (serotonina y noradrenalina). De hecho, la dopamina y la serotonina comparten rutas metabólicas, la MAO tipo A convierte la DA en DOPAC y la 5HT en 5HIAA. Además, uno de los pasos en la transformación de NA a MHPG también es llevada a cabo por la MAO tipo A.<sup>9</sup>

El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos secundarios a largo plazo del tratamiento con fluoxetina, intentado comprobar si esta producía un aumento de la impulsividad y violencia de los monos, lo cual se comprobó con un test de impulsividad ciego y

randomizado para cada grupo. De esta manera se podría determinar un metabotipo pretratamiento que permitiera prever cómo sería la respuesta al tratamiento de cada individuo y excluir a aquellas personas que tengan un alto riesgo de desarrollar efectos secundarios.<sup>12</sup>

#### Plasma:

El análisis en plasma demostró que existían diferencias significativas en 19 metabolitos cuando se comparaba el grupo que recibía fluoxetina respecto al grupo control. Siete de ellos se encontraron disminuidos y doce aumentados. Si en cambio se tiene en cuenta el polimorfismo de la MAO-A y se dividen los grupos en función de su actividad se mostró que aparecían diferencias significativas en 21 metabolitos en los monos con el polimorfismo de la MAO-A de alta actividad (Tabla 6).<sup>12</sup>

Fluoxetina		Polimorfismo MAO-A de alta actividad	
Aumentados	Disminuidos	Aumentados	Disminuidos
Asparagina	Indol-3-lactato	Indol-3-lactato	Asparagina
Glioxalurea	Ácido araquidónico	Ácido araquidónico	Glioxalurea
Ácido parabanico	Ácido mirístico	Ácido mirístico	Ácido parabánico
Ácido oxâmico	Hidroxilamina	Ácido alantoico	Ácido oxâmico
Ácido nicotínico	N-acetil-5-	Cisteína	Ácido nicotínico
2,3-dihidroxipiridina	hidroxitriptamina	Ácido fumárico	2,3-dihidroxipiridina
Ácido shikimico	Ácido palmítico	Ácido linoleico	Ácido shikimico
Ácido dehidroascórbico	Fructosa	Ácido	Ácido dehidroascórbico
Ácido lactam 5-		isoheptadecanoico	3-fosfoglicerato
aminovalérico		Ácido 2-	2-deoxieritritol
Ácido glicólico		ketoisocaproico	Benzialcohol
Urea		Hipoxantina	
2,3,5-trihidroxipirazina			

**Tabla 6:** en las dos columnas de la izquierda se muestran los cambios observados en el plasma de monos tras la administración de fluoxetina durante un año en relación con la respuesta al tratamiento. En las dos columnas de la derecha se muestran los cambios tras un año de tratamiento con fluoxetina en el plasma de monos con un polimorfismo de la MAOA-A de alta actividad.<sup>12</sup>

#### Líquido cefalorraquídeo (LCR):

El LCR ofreció una separación de las muestras mejor que el plasma. En la comparación entre el grupo con fluoxetina y el grupo control se encontró la alteración de 5 metabolitos con significación estadística mientras que al hacer la comparación respecto a la actividad de la MAO-A se muestran tan sólo 3 metabolitos significativamente alterados (Tabla 7).<sup>12</sup>

Fluoxetina		Polimorfismo MAO-A de alta actividad	
Aumento	Descenso	Aumento	Descenso
Ácido lactam 5-aminovalérico	Triptófano Ribitol Ácido isoheptadecanoico Ácido 2-hidroxibutanoico	Treitol N-acetilmanosamina	Hipoxantina

**Tabla 7:** en las dos columnas de la izquierda se muestran los cambios observados en el LCR de monos tras la administración de fluoxetina durante un año en relación con la respuesta al tratamiento. En las dos columnas de la derecha se muestran los cambios en LCR tras un año de tratamiento con fluoxetina en monos con un polimorfismo de la MAOA-A de alta actividad.<sup>12</sup>

Sólo dos metabolitos cambiaron de manera significativa tanto en plasma como LCR, que fueron el ácido lactam 5-aminovalérico y la hipoxantina.<sup>12</sup>

Tras la finalización de este estudio se concluyó que a pesar de que la fluoxetina a largo plazo sí que incrementó la impulsividad de los monos, esto no tenía relación con la actividad de la enzima MAO-A.<sup>12</sup>

Las principales rutas metabólicas alteradas fueron la de la alanina, aspartato y glutamato; identificando en plasma la asparagina y el ácido fumárico como indicadores de respuesta a fluoxetina y la vía de la nicotina y la nicotinamida; identificando en plasma metabolitos relacionados con la impulsividad (ácido pirúvico) y otros relacionados con la respuesta a fluoxetina (ácido nicotínico, 2,3-dihidroxipiridina, 2,3,5-trihidroxipirazadina y ácido fumárico).<sup>12</sup>

Otro estudio realizado en primates con fluoxetina por Golub MS. y col. buscaba estudiar los efectos de los antidepresivos en niños. El estudio se llevó a cabo en 6 monos, en los cuales de nuevo se encontraron diferencias respecto a la actividad de la MAO-A (alta y baja actividad) debido a un polimorfismo. El estudio duró 4 meses y se tomaron muestras de LCR, analizándose mediante HPLC.<sup>29</sup>

Tras el análisis del LCR se encontraron diferencias según sexo, hallándose valores más elevados en hembras que en machos en todos los análisis. Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias en función de la actividad de la MAO-A.<sup>29</sup>

La serotonina fue el único NT monoamina que se encontró a concentraciones detectables. Los metabolitos DOPAC y HVA (vía de la dopamina) y el 5-HIAA (vía de la serotonina) también fueron detectados en todas las muestras. Comparando los valores al inicio y al final del tratamiento se halló un aumento significativo de serotonina con un descenso no significativo de su metabolito 5-HIAA, lo cual lleva a un descenso significativo de la ratio 5-HIAA/5-HT. En cuanto a los metabolitos de la dopamina, se vio el aumento de ambos, tanto HVA como DOPAC.<sup>29</sup>

Con este trabajo se pudo estudiar la variación de los metabolitos relacionados con los NT monoaminas para elaborar un modelo útil, efectivo y extrapolable a niños en el tratamiento con fluoxetina.<sup>29</sup>

### **6.5. Escitalopram en humanos**

Ji Y. y col. realizaron un estudio en 40 pacientes con un ISRS, en este caso eligieron escitalopram, durante 8 semanas. Se tomaron muestras de plasma al inicio, en la semana 4 y en la 8 y fueron analizadas mediante GC-MS.<sup>30</sup>

El análisis metabolómico tras 8 semanas de tratamiento dio como resultado que 26 de los pacientes respondieron al mismo mientras que 13 no lo hicieron. Un no respondedor fue excluido del análisis porque se consideró un caso atípico.<sup>30</sup>

En este estudio se observaron alteraciones en la ruta metabólica del nitrógeno, dentro de la cual la glicina destacó como un componente primordial. Estudiando la vía del nitrógeno se pudo observar la alteración de 5 metabolitos de manera significativa, encontrándose niveles elevados de ácido aspártico, asparagina e hidroxilamina pretratamiento, que se correlacionaron con una mejor respuesta al tratamiento antidepresivo. Por otra parte, los niveles más bajos de glicina y ácido glutámico se correlacionaron con una mejor respuesta al escitalopram.<sup>30</sup>

De todos los metabolitos estudiados el que más destacó fue la glicina, que es un aminoácido que actúa como un NT inhibidor del SNC. Los autores vieron que en función de los niveles pretratamiento de glicina se observaron diferencias significativas en la respuesta a escitalopram, por lo que podría pensarse en una posible relación entre los genes que codifican para la síntesis o degradación de glicina y la respuesta a este fármaco.<sup>30</sup>

### **6.6. Sertralina en humanos**

En 2011 Kaddurah-Daouk R. y col. realizaron un estudio en 89 humanos, recibiendo 43 de ellos sertralina y 46 placebo durante 4 semanas. Este estudio se realizó con doble ciego y los resultados se analizaron en plasma mediante LCECA (cromatografía líquida electroquímica). Los pacientes fueron definidos como respondedores cuando existía una reducción de >50% en la escala Hamilton para depresión respecto al valor inicial.<sup>7</sup>

La tasa de respuesta fue ligeramente mayor en los tratados con sertralina (58%) que en los tratados con placebo (39%), sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significación estadística ( $p=0,24$ ).<sup>7</sup>

A través de este estudio se intentó determinar un metabotipo pretratamiento que permitiera determinar qué pacientes responderían al tratamiento y cuáles no. De esta manera, tras el análisis metabolómico de las muestras, concluyeron que la clasificación según el fenotipo metabolómico inicial fue correcta en la siguiente medida: (Tabla 8)

	Sertralina	Placebo
<b>Respondedores</b>	21/25 (84%)	8/19 (42%)
<b>No respondedores</b>	14/18 (74%)	25/27 (93%)
<b>Global</b>	81%	72%

**Tabla 8:** porcentaje de pacientes clasificados de manera correcta en función de su metabotipo pretratamiento tras la comprobación de respuesta (mejoría clínica) a las 4 semanas de tratamiento a través del test de Hamilton para depresión.<sup>7</sup>

Algunos de los metabolitos utilizados para realizar la separación entre respondedores y no respondedores en los tratados con sertralina fueron:<sup>7</sup>

- Vía de la tirosina: ácido dihidroxifenilacético (DOPAC)
- Vía de la fenilalanina: ácido 4-hidroxifenilacético (4-HPLA)
- Vía del triptófano: serotonina
- Vía de la vitamina E: gamma tocoferol

Por su parte, en el placebo este grupo fue mucho más amplio e incluyó:<sup>7</sup>

- Vía de la purina: hipoxantina, xantina, ácido úrico
- Vía del triptófano: 5-metoxitriptofol, serotonina, 3-hidroxikinurenina y ácido 5-hidroxiindolacético
- Vía de la tirosina: DOPAC
- Vía de los aminoácidos sulfuro: cisteína
- Vía de la vitamina E: tocoferoles

Algunos compuestos aparecen de manera exclusiva en el grupo del placebo, como por ejemplo las purinas y el 5-metoxitriptofol, que parecen tener importancia únicamente en la respuesta en el grupo control. Por otra parte, el 4-HPLA parece un indicador importante entre los tratados con sertralina.<sup>7</sup>

Realizando el análisis para sertralina y placebo de manera conjunta observaron que el DOPAC, el gammatocoferol y la serotonina son los metabolitos que más contribuyen a la separación entre respondedores y no respondedores. De esta manera el estudio concluyó que a través de su perfil metabolómico pretratamiento los pacientes sí que pueden dividirse en respondedores y no respondedores en ambos grupos.<sup>7</sup>

En 2013 este mismo grupo de científicos llevó a cabo otro estudio con sertralina versus placebo durante 4 semanas bajo las mismas condiciones, sin embargo, esta vez el análisis metabolómico se llevo a través de GC-TOF-MS.<sup>31</sup>

En este estudio de nuevo encontramos que la respuesta a sertralina fue ligeramente mayor que para placebo, sin embargo, siguió sin alcanzar significación estadística, siendo 26/43 (60%) vs 23/46 (50%) respectivamente.<sup>31</sup>

En ambos grupos se observaron cambios tras una semana de tratamiento respecto a la situación basal, sin embargo, estos cambios no fueron significativos. Tras cuatro semanas de tratamiento los cambios fueron mucho más amplios, observándose alteraciones en los ácidos grasos y el glicerol así como entre los metabolitos de los ciclos del ácido tricarboxílico (TCA), la urea, los aminoácidos, las purinas, el triptófano, los cuerpos cetónicos y el metabolismo de los monocarbonados. Sin embargo, de todos estos cambios los únicos que mostraron una disminución estadísticamente significativa fueron los ácidos linoleico, araquidónico y palmítico así como la ornitina y el glicerol en el grupo de la sertralina y los ácidos hipúrico, elaidico, oleico y palmitoleico y la fructosa en el grupo del placebo (Tabla 9).<sup>31</sup>

4 semanas	Aumento	Descenso
<b>Sertralina</b>	Ácido acotínico Cisteína Ácido indol-3-acético Ácido 3-hidroxi-butanoico	<b>Ácido linoleico</b> <b>Ornitina</b> <b>Isómero ácido araquidónico</b> <b>Ácido palmítico</b> <b>Glicerol</b> Xantina 5-Metoxitriptamina Ácido oleico Ácido palmitoleico Ácido heptadecanoico Citrulina
<b>Placebo</b>	<b>Fructosa</b> <b>Ácido hipúrico</b> Glutamina Ácido glutámico Prolina GABA Creatinina	<b>Ácido elaidico</b> <b>Ácido linoleico</b> <b>Ácido oleico</b> <b>Ácido palmitoleico</b> Ácido mirístico Glicerol Alfa-cetoglutarato Homoserina Xantina Ácido 3-hidroxi-butanoico

**Tabla 9:** cambios observados en humanos tras el tratamiento durante 4 semanas con sertralina o placebo.

En negrita se muestran aquellos cambios con  $p < 0,05$ .<sup>31</sup>

**Relación entre los cambios y la respuesta al tratamiento:**

Dentro de este mismo trabajo también se realizó un estudio metabolómico sobre la respuesta al tratamiento, considerando respondedores a aquellos que presentaran una mejora de >50% en la escala de Hamilton para la depresión respecto al valor inicial (Tabla 10).<sup>31</sup>

	<b>Sertralina</b>		<b>Placebo</b>	
	<b>1 semana</b>	<b>4 semanas</b>	<b>1 semana</b>	<b>4 semanas</b>
<b>Aumento</b>	Isomero ácido araquidónico Ácido alfa- cetoglutarico Xilosa	Ácido láctico Pseudouridina Conduritol-beta-epoxi Inulobiosa	4-hidroxiprolina Malato	Ribosa6 Ácido 3- hidroxibutanoico Citrulina
<b>Descenso</b>	5-metoxitriptamina Ribosa Trehalosa Cisteína	Cadenas de aminoácidos ramificadas Valina Leucina Isoleucina Cisteína NIST ácido manónico	Ácido fosfórico Colesterol	Ácido láctico Ácido oxálico NIST hidroxicarbamato Indol-3-acetato 1-monoestearin

**Tabla 10:** alteraciones observadas en relación con la respuesta al tratamiento a la semana y a las 4 semanas en el grupo tratado con sertralina (dos columnas de la izquierda) y en el grupo tratado con placebo (dos columnas de la derecha).<sup>31</sup>

En relación con el tratamiento con sertralina, tras 1 semana el descenso de 5-metoxitriptamina (5-MTPM) fue lo que más destacó con respecto a la mejoría clínica. Sin embargo, tras 4 semanas esta mejoría se relacionó más con el descenso de cadenas de aminoácidos ramificadas, valina, leucina e isoleucina. En contraste con la sertralina, en el placebo no se encontró relación entre la respuesta y los niveles de cadenas de aminoácidos ramificados.<sup>31</sup>

De este estudio se dedujo que la isoleucina, leucina, metionina, valina y tirosina poseen una gran importancia en la respuesta a sertralina, mostrando que los niveles de aminoácidos, así como la función y transporte de estos, podría tener relación con la depresión, sugiriendo que continuar con la investigación respecto a los aminoácidos podría esclarecer los mecanismos biológicos de la sertralina.<sup>31</sup>

Otro estudio llevado a cabo con sertralina y placebo por Hongjie Zhu y col. tuvo un diseño similar, es decir, fue un ensayo doble ciego durante 4 semanas y el análisis metabolómico se realizó en plasma.<sup>32</sup>



Este estudio mostró de nuevo una respuesta mayor en el grupo tratado con sertralina (21/35 [60%]) que el tratado con placebo (20/40[50%]), pero esta volvió a no ser estadísticamente significativa.<sup>32</sup>

El objetivo de este estudio fue analizar los cambios en la vía del triptófano relacionados con las rutas entre el metoxindol y la kinurenina, para intentar demostrar cómo las diferencias en la regulación de estos caminos puede contribuir en la diferente respuesta al tratamiento (Tabla 11).<sup>32</sup>

	Sertralina		Placebo	
	1 semana	4 semanas	1 semana	4 semanas
<b>Aumento</b>	HGA	TRP	Tyr	3OHKY
	4-HPLA	MEL	DIOHMAL	Tyr
		4-HPAC	HGA	HGA
		DIOHMAL	4-HPLA	METH
		HGA	ATOCO	4HPLA
		METH	DTOCO	ATOCO
		4-HPLA		DTOCO
		ATOCO		
		DTOCO		
<b>Descenso</b>	5-HT	5-HT	TRPOL	
	5-HIAA	5-MTPM	5HT	
	UA	XAN	5MTPM	
		UA	XAN	
			HX	

**Tabla 11:** cambios observados en relación con la respuesta al tratamiento a la semana y a las 4 semanas en el grupo tratado con sertralina (dos columnas de la izquierda) y en el grupo tratado con placebo (dos columnas de la derecha).<sup>32</sup>

Los pacientes que mostraron una buena respuesta a sertralina, tenían niveles pretratamiento más altos de 5-metoxitriptamina (5-MTPM) y una mayor disminución de esos niveles tras el tratamiento, con un aumento del 5-metoxitriptofol (5-MTPOL) y la melatonina (MEL). Este aumento de 5-MTPOL y MEL también se observó en el grupo placebo en asociación con la respuesta a las 4 semanas mientras que cambios en 5-MTPM no se asociaron con la respuesta en este grupo.<sup>32</sup>

En ambos grupos se observa dentro de los respondedores una disminución postratamiento de las ratios KYN/MEL y 3OHKY/MEL. Estos resultados sugieren que la recuperación de la depresión tanto en el tratamiento con sertralina como con placebo podría estar asociada con la utilización de serotonina para la producción de melatonina y 5-MTPOL.<sup>32</sup>

En este trabajo se estudió el perfil metabólico a la semana y a las 4 semanas de tratamiento. Un análisis detallado de los cambios entre las ramas del metoxindol y la kinurenina de la vía del triptófano permitieron evaluar cuál era la causa de la diferencia de respuesta entre sujetos.<sup>32</sup>

Analizando la mejoría de los síntomas y su posible correlación con los cambios metabólicos se observa que tras una semana con sertralina los cambios en KYN y 5-HT se asocian con una disminución significativa de los síntomas, mientras que en placebo los cambios en DOPAC se correlacionan con respuesta a tratamiento.<sup>32</sup>

Tras 4 semanas de tratamiento con sertralina se observan cambios significativos en la vía del triptófano relacionados con respuesta al tratamiento (mejoría de síntomas) incluyendo 5-MTPOL, MEL y 5-HIAA.<sup>33</sup>

### **Vía del triptófano en los tratados con sertralina:**<sup>32</sup>

Dentro de la vía del triptófano se ha observado una correlación positiva entre los niveles de 5-MTPM pretratamiento y la respuesta al tratamiento, demostrando que los niveles altos de 5-MTPM al inicio se encuentran relacionados con una respuesta más favorable al tratamiento tras 4 semanas, aunque ninguna del resto de correlaciones fueron significativas.

En los tratados con sertralina vemos un descenso marcado y significativo de los valores de 5-MTPM entre los buenos respondedores al tratamiento. También vemos aumentos significativos de 5-MTPOL y MEL y descenso de 5-HT.

En el grupo de sertralina pero que no responde al tratamiento, se observó un descenso significativo de 5-HT, no así de 5-MTPOL, MEL y 5-MTPM. Esto nos podría llevar a pensar que cambios en MEL y 5-MTPOL pueden jugar un papel importante en los mecanismos de respuesta a la sertralina.

Existen diferencias entre los respondedores y los no respondedores a sertralina en cuanto a las ratios de la vía del triptófano. Se observa en los respondedores un descenso significativo en los ratios KYN/MEL y 3OHKY/MEL respecto a los valores pretratamiento. Esto nos sugiere que existe un papel clave en la actividad de la rama de la kineurina dentro de la ruta del triptófano hacia la producción de melatonina (Figura 3).

### **Vía del triptófano en los tratados con placebo:**<sup>32</sup>

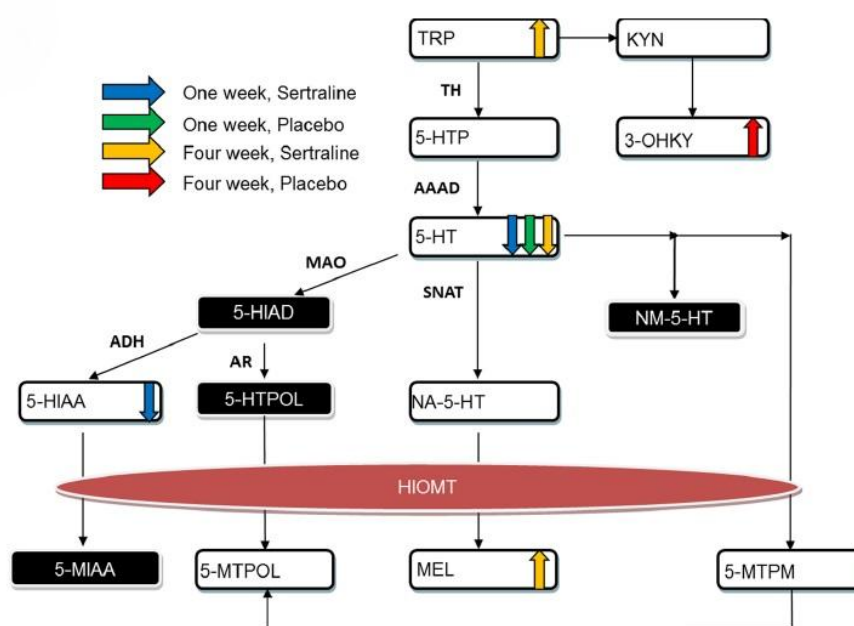
Se ha observado una correlación negativa entre los niveles iniciales de 5-MTPOL y la respuesta al tratamiento a las 4 semanas, en las que se ve que niveles de 5-MTPOL más bajos al comienzo del tratamiento producen una respuesta clínica a placebo mayor.

Los pacientes con respuesta a placebo 4 semanas después, mostraron niveles de 5-MTPOL y MEL más elevados, un patrón similar al observado en los buenos respondedores a sertralina. Sin embargo, no resultaron estadísticamente significativos.

Al igual que con los buenos respondedores a sertralina, en los respondedores a placebo se muestra un cambio de tendencia de la producción de KYN hacia la producción MEL dentro de la ruta del triptófano.

Existen diferencias entre los respondedores y los no respondedores a sertralina en cuanto a las ratios de la vía del triptófano. Observamos en los respondedores un descenso significativo en los ratios KYN/MEL y 3OHKY/MEL respecto a los valores pretratamiento. Esto nos sugiere que existe un papel clave en la actividad de la rama de la kineurina dentro de la ruta del triptófano hacia la producción de melatonina.

Mejores resultados tras el tratamiento con sertralina se asocian con el efecto de la rama del metoxindol dentro de la vía del triptófano, en comparación con la actividad de la rama de la kinurenina. El aumento de 5-MTPOL y MEL tanto en respondedores a sertralina como en respondedores a placebo sugiere que cambios en la vía de metoxindol puede tener relación con la depresión. Mientras que el 5-MTPM aparece disminuido y puede estar relacionado de manera exclusiva con la respuesta a la sertralina. Un análisis más exhaustivo nos centra principalmente en el comportamiento del metoxindol y la kineurina en respondedores o no entre placebo y sertralina.<sup>32</sup>



**Figura 3:** cambios observados en la vía del triptófano, hacia la producción de kinurenina y melatonina. Azul: cambios tras una semana con sertralina; verde: cambios tras una semana con placebo; amarillo: cambios tras 4 semanas con sertralina y rojo: cambios tras 4 semanas con placebo.<sup>32</sup>

## Discusión

El tema a estudio se encuentra aún en el comienzo de sus investigaciones, por lo que los resultados de estos trabajos muestran una amplia variabilidad entre ellos. Esto puede deberse a que no todos los trabajos se han llevado a cabo bajo el mismo tipo de análisis ni han medido los mismos metabolitos. Sin embargo, podemos empezar a analizar los primeros hallazgos encontrados

Los estudios con animales revelaron alteraciones principalmente en los metabolitos relacionados con el metabolismo energético, destacando entre ellos los lípidos y los glúcidos. Además en todos los trabajos, tanto en animales como en humanos, se observaron alteraciones en los niveles de aminoácidos; lo cual puede tener relación con la producción y degradación de neurotransmisores en el SNC, que a su vez puede estar relacionado con las bases fisiopatológicas de la depresión.

Los principales cambios observados tras el tratamiento con fluoxetina se encuentran relacionados con el metabolismo energético (lípidos y glúcidos) y los aminoácidos. Por ejemplo, tras la administración de fluoxetina en monos se observó el descenso de la fructosa, mientras que en los astrocitos de ratas tras el mismo tratamiento descendió la glucosa, estando ambos metabolitos relacionados con los niveles energéticos. Cambios en el metabolismo energético también han sido observados tras el tratamiento con paroxetina en ratas, destacando un aumento de la glucólisis y de la ratio ATP/ADP, que parece tener relación con la neurogénesis y la respuesta al tratamiento.

Los cambios apreciados en relación con los aminoácidos muestran un aumento de la asparagina entre los respondedores al tratamiento con fluoxetina, tanto en monos como en astrocitos. Sin embargo, el resto de aminoácidos muestran una alta variabilidad ya que los cambios restantes aparecen exclusivamente en astrocitos; estos son el aumento de lisina y tirosina y el descenso de isoleucina y metionina, que parecen tener relación con la estimulación de la gluconeogénesis.

Otras de las alteraciones relacionadas con la respuesta a la fluoxetina, que aparece tanto en los estudios con monos como en ratas, son el aumento de los niveles de serotonina y de los metabolitos DOPAC y HVA de la dopamina acompañado de un descenso del metabolito 5-HIAA y de la ratio 5-HIAA/5-HT. Esto concuerda con estudios previos con fluoxetina en monos en los que el descenso del 5-HIAA en LCR se correlacionó con la respuesta al tratamiento.<sup>33,34</sup> Concretamente, el estudio llevado a cabo por De Bellis y col. mostró un descenso significativo del 5-HIAA y MHPG en LCR en humanos tratados con fluoxetina y aumentó la ratio HVA/5-HIAA.<sup>34</sup> Otro estudio llevado a cabo con fluoxetina y fluvoxamina en pacientes con depresión mostró de nuevo un descenso de los niveles de 5-HIAA y MHPG y una tenencia a la disminución del HVA.<sup>35</sup>

Estudios anteriores han mostrado que cambios similares a los encontrados en el tratamiento con fluoxetina aparecen también tras el tratamiento con paroxetina. En estos la paroxetina reveló alteraciones de los metabolitos 5-HIAA, MHPG y HVA en LCR, mostrando la relación entre el sistema serotoninérgico y noradrenérgico.<sup>36</sup>

Por otra parte, tras el tratamiento con venlafaxina observamos de nuevo un aumento de la serotonina y un descenso del metabolito 5-HIAA y de la ratio 5-HIAA/5-HT a dosis medias de venlafaxina, sin embargo, el 5-HIAA aumentó a dosis altas de venlafaxina. Otros cambios observados en los tratados con venlafaxina fueron el aumento de la noradrenalina y serotonina, cuya alteración supuso la principal relación con la respuesta al tratamiento. A raíz de lo anterior, se puede concluir que los cambios producidos en la vía del triptófano y la tirosina tras el estudio metabolómico parecen ser los mismos en el tratamiento con fluoxetina, paroxetina y venlafaxina.

La sertralina ha sido, hasta el momento, el fármaco antidepresivo más utilizado en la investigación en humanos. En todos los estudios llevados a cabo se ha observado una tasa de respuesta mayor a sertralina que a placebo, sin embargo, la diferencia no ha sido lo suficientemente amplia en ninguno de ellos como para alcanzar el nivel de significación estadística. Esto puede deberse a que uno de los principales problemas dentro del tratamiento antidepresivo es la amplia respuesta a placebo de los pacientes.

En todos los estudios considerados, los principales cambios se han observado dentro de la vía del triptófano, aunque también aparecen variaciones en la vía de la tirosina y de las purinas así como en los niveles de aminoácidos. En diferentes estudios se ha visto que niveles elevados de 5-MTPM pretratamiento asociados a su descenso tras la administración de sertralina se relacionan con una buena respuesta al fármaco.

En los pacientes que responden al tratamiento, tanto en sertralina como un placebo, se observa un descenso de los niveles de serotonina y 5-MTPM, acompañados de un aumento de melatonina y 5-MTPOL. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que mostraban que el descenso de la serotonina se asociaba a la respuesta a la sertralina<sup>37,38</sup> pero contrasta con los resultados observados en el tratamiento con fluoxetina y venlafaxina que asociaban la respuesta con un aumento de los niveles de serotonina asociados a un descenso del 5-HIAA.

El análisis metabolómico tras la administración de sertralina también mostró alteraciones en los niveles de aminoácidos y de cadenas ramificadas de aminoácidos. Los aminoácidos que aparecieron alterados fueron valina, leucina, isoleucina y cisteína, siendo la valina el más altamente relacionado con la mejoría clínica. Los niveles de isoleucina se encontraron disminuidos, lo cual concordaba con los resultados encontrados tras el tratamiento con fluoxetina.

Cambios en los niveles de aminoácidos aparecen prácticamente en todos los estudios llevados a cabo con antidepresivos, lo cual parece estar relacionado con la fisiopatología y

etiología de la depresión, ya que muchos de ellos actúan como NT del SNC. Sin embargo, los cambios producidos por cada tratamiento son muy amplios y diferentes, observando que el aminoácido cuya alteración se ha observado más veces en todos los estudios es el aumento de los niveles de asparagina, cuyo aumento se pudo observar en el tratamiento con escitalopram y fluoxetina. Además, en el tratamiento con escitalopram se observó un descenso en los niveles de ácido glutámico que concordaba con la alteración de la vía del glutamato en el tratamiento con fluoxetina en asociación a la respuesta al fármaco.

El tratamiento con sertralina ha mostrado alteraciones en un gran número de compuestos lipídicos así como del glicerol (metabolismo energético), lo cual aparecía ya, anteriormente, en estudios llevados a cabo con fluoxetina y paroxetina. También aparecen alteraciones en los niveles de purinas como son el descenso de la xantina y el ácido úrico. Cambios en los metabolitos de las purinas también se encontraron en el tratamiento con fluoxetina, observándose un aumento de la hipoxantina en plasma asociada a un descenso de la misma en LCR y al aumento de la urea en plasma. Los cambios producidos en los niveles de las purinas están en consonancia con el cambio en los aminoácidos, ya que la degradación de estos últimos necesita de esta vía metabólica para ser eliminados.

En definitiva, a día de hoy no se ha encontrado un biomarcador específico en la respuesta al tratamiento depresivo que sea lo suficientemente concreto y fiable como para utilizarlo en la práctica clínica, ya que tras el análisis de los resultados obtenidos vemos algunas alteraciones comunes a diferentes tratamientos, pero ninguna de ellas consigue ser lo suficientemente exclusiva y significativa. Es posible que esto se deba bien al tipo de estudio realizado (con metabolitos diana o sin ellos) o bien a que las técnicas previas de procesamiento de las muestras antes de introducirlas en el espectrómetro de masas provoquen la pérdida de importantes metabolitos que podrían servir como biomarcadores.

Es por esto que la necesidad de desarrollar técnicas nuevas y más efectivas para el diagnóstico y tratamiento apoyado en la metabolómica es cada vez más urgente. Para ello, en el Departamento de Farmacología se ha desarrollado una técnica no invasiva y precisa que permite la introducción directa de muestras biológicas en el espectrómetro de masas, con el fin de evitar el procesado previo de las mismas que pudiera llevar a la pérdida de metabolitos importantes. Es decir, conseguir la mejor reproducibilidad del estudio y aumentar la sensibilidad y rentabilidad del análisis. Esta técnica se está utilizando en un estudio de depresión con el fin de buscar biomarcadores útiles tanto para diagnóstico como para tratamiento con resultados prometedores.<sup>11</sup>

Con la vista puesta en el futuro, lo ideal sería desarrollar dispositivos que nos permitieran el análisis ómico directamente en la consulta médica, obteniendo el resultado de manera inmediata y evitando la espera a los resultados de laboratorio. De esta manera podremos ejercer una medicina más individualizada y favorecer así el diagnóstico y la elección del tratamiento idóneo para cada paciente.

## Conclusiones

1. Actualmente ninguno de los metabolitos analizados posee la evidencia necesaria para ser utilizado como biomarcador en la respuesta a fármacos antidepresivos.
2. La optimización de las técnicas ómicas puede aportar nuevas perspectivas en la búsqueda de este tipo de biomarcadores.
3. La nueva visión que aporta el estudio del metaboloma a través de estudios sin blanco (metabolitos diana) puede conducir a la generación de nuevas hipótesis tanto fisiopatológicas como terapéuticas.
4. En relación con la respuesta a los medicamentos, la farmacometabolómica es un campo aún por desarrollar con futuras posibilidades en la individualización del tratamiento.

## Bibliografía

1. Ordovás JM. Integración del medio ambiente y la enfermedad en el análisis «ómico». *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(Supl 2):17-22
2. Milke-García MP. Nutrigenómica, proteómica y metabolómica en la prevención y tratamiento de las enfermedades gastrointestinales. *Rev Gastroenterol Mex*. 2012; 77(Supl.1):29-31
3. Kaddurah-Daouk R<sup>1</sup>, Weinshilboum RM<sup>2</sup>; Pharmacometabolomics Research Network. Pharmacometabolomics: implications for clinical pharmacology and systems pharmacology. *Clin Pharmacol Ther*. 2014 Feb;95(2):154-67.
4. Martínez Chantar ML. Principios de la metabolómica. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35(Espec Congr 1):119-125
5. Martins-de-Souza D. Proteomics, metabolomics, and protein interactomics in the characterization of the molecular features of major depressive disorder. *Dialogues Clin Neurosci*. 2014 March; 16(1): 63–73
6. Weng R, Shen S, Tian Y, Burton C, Xu X, Liu Y, Chang C, Bai Y, Liu H. Metabolomics Approach Reveals Integrated Metabolic Network Associated with Serotonin Deficiency. *Sci Rep*. 2015;5:11864.
7. Kaddurah-Daouk R<sup>1</sup>, Boyle SH, Matson W, Sharma S, Matson S, Zhu H, Bogdanov MB, Churchill E, Krishnan RR, Rush AJ, Pickering E, Delnomdedieu M. Pretreatment metabotype as a predictor of response to sertraline or placebo in depressed outpatients: a proof of concept. *Transl Psychiatry*. 2011;1(7):e26.
8. Chen J, Hou W, Han B, Liu G, Gong J, Li Y, Zhong D, Liao Q, Xie Z. Target-based metabolomics for the quantitative measurement of 37 pathway metabolites in rat brain and serum using hydrophilic interaction ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2016 Apr;408(10):2527-42.
9. Fenli S, Feng W, Ronghua Z, Huande L. Biochemical mechanism studies of venlafaxine by metabonomic method in rat model of depression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Jan;17(1):41-48.
10. Fakhoury M. New insights into the neurobiological mechanisms of major depressive disorders. *Gen Hosp Psychiatry*. 2015 Mar-Apr;37(2):172-7.
11. Lorenzo-Tejedor M, De la Cámara C, López-Antón R, Bailon R, Aguiló J, Bernal Ruiz ML. Direct infusion Electrospray Mass Spectrometry as a new non-invasive tool for serum metabolomics in induced-stress subjects. *Eur. J. Psychiat*. 2015;29(4):259-275.
12. He Y, Hogrefe CE, Grapov D, Palazoglu M, Fiehn O, Turck CW, Golub MS. Identifying individual differences of fluoxetine response in juvenile rhesus monkeys by metabolite profiling. *Transl Psychiatry*. 2014 Nov 4;4:e478.



13. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures. *J Biol Chem.* 2004 Apr 2;279(14):14009-14015.
14. Perea, G, Navarrete M, Araque A. Tripartite synapses: Astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci.* 2009 Aug;32(8):421-431.
15. Si X, Miguel-Hidalgo JJ, O'Dwyer G, Stockmeir CA, Rajkowska G. Age-dependant reductions in the level of glial fibrillary acidic protein in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacology.* 2004 Nov;29(11):2088-2096.
16. Allaman I, Fiumelli H, Magistretti PJ, Martin JL. Fluoxetine regulates the expression of the neurotrophic/growth factors and glucose metabolism in astrocytes. *Psychopharmacology (Berl).* 2011 Jul;216(1):75-84.
17. Bai S, Zhou C, Cheng P, Fu Y, Fang L, Huang W, Yu J, Shao W, Wang X, Liu M, Zhou J, Xie P. <sup>1</sup>H NMR-based metabolic profiling reveals the effects of fluoxetine on lipid and amino acid metabolism in astrocytes. *Int J Mol Sci.* 2015 Apr 15;16(4):8490-504.
18. Saher G, Quintes S, Nave KA. Cholesterol: novel regulatory role in myelin formation. *Neuroscientist.* 2011 Feb;17(1):79-93.
19. Priege, F. Role of cholesterol in synapse formation and function. *Biochim Biophys Acta.* 2003 Mar 10;1610(2):271-80.
20. Zheng P, Gao H-C, Qi Z-G, Jia J-M, Li FF, Chen JJ, Wang Y, Guo J, Melgiri ND, Xie P. Peripheral metabolic abnormalities of lipids and amino acids implicated in increased risk of suicidal behavior in major depressive disorder. *Metabolomics.* 2013;9(3):688-696.
21. Smriga M, Kameishi M, Uneyama H, Torii K. Dietary L-lysine deficiency increases stress-induced anxiety and fecal excretion in rats. *J Nutr.* 2002 Dec;132(12):3744-6.
22. Lei Y, Li D, Deng J, Shao W-H, Fan S-H, Wang X, Huang H, Chen S-G, Zhang H-Z, Zhang L. Metabolomic profiling of three brain regions from a postnatal infected Borna disease virus Hu-H1 rat model. *Metabolomics.* 2014;10:484-495.
23. Smriga M, Ghosh S, Mouneimne Y, Pellett PL, Scrimshaw NS. Lysine fortification reduces anxiety and lessens stress in family members in economically weak communities in Northwest Syria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004 Jun 1;101(22):8285-8288.
24. Shao W-H, Fan S-H, Lei Y, Yao GE, Chen J-J, Zhou J, Xu H-B, Liu H-P, Wu B, Zheng P. Metabolomic identification of molecular changes associated with stress resilience in the chronic mild stress rat model of depression. *Metabolomics* 2013;9(2):433-443.
25. Gao X, Zheng X, Li Z, Zhou Y, Sun H, Zhang L, Guo X, Du G, Qin X. Metabonomic study on chronic unpredictable mild stress and intervention effects of Xiaoyaosan in rats using gas chromatography coupled with mass spectrometry. *J Ethnopharmacol.* 2011 Sep 1;137(1):690-9.
26. McLean A, Rubinsztein JS, Robbins TW, Sahakian BJ. The effects of tyrosine depletion in normal healthy volunteers: Implications for unipolar depression. *Psychopharmacology (Berl).* 2004 Jan;171(3):286-97.

27. Webhofer C, Gormanns P, Reckow S, Lebar M, Maccarrone G, Ludwig P, Pütz B, Asara KM, Holsboer F, Sillaber I, Zieglgänsberger W, Turck WC. Proteomic and metabolomic profiling reveals time-dependent changes in hippocampal metabolism upon paroxetine treatment and biomarker candidates. *J Psychiatr Res*. 2013 Mar;47(3):289-98.
28. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*. 2003 Aug 8;301(5634):805-9.
29. Golub MS, Hogrefe CE. Fluoxetine: juvenile pharmacokinetics in a nonhuman primate model. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014 Oct;231(20):4041-7.
30. Ji Y, Hebring S, Zhu H, Jenkins GD, Biernacka J, Snyder K, Drews M, Fiehn O, Zeng Z, Schaid D, Mrazek DA, Kaddurah-Daouk R, Weinshilboum RM. Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics. *Clin Pharmacol Ther*. 2011 Jan;89(1):97-104.
31. Kaddurah-Daouk R, Bogdanov MB, Wikoff WR, Zhu H, Boyle SH, Churchill E, Wang Z, Rush AJ, Krishnan RR, Pickering E, Delnordedieu M, Fiehn O. Pharmacometabolomic mapping of early biochemical changes induced by sertraline and placebo. *Transl Psychiatry*. 2013 Jan;3:e223.
32. Zhu H, Bogdanov MB, Boyle SH, Matson W, Sharma S, Matson S, Churchill E, Fiehn O, Rush JA, Krishnan RR, Pickering E, Delnordedieu M, Kaddurah-Daouk R. Pharmacometabolomics of response to sertraline and to placebo in major depressive disorder – possible role of methoxyindole pathway. *PLoS One*. 2013 Jul 17;8(7):e68283.
33. Shrestha SS, Nelson EE, Liow JS, Gladding R, Lyoo CH, Noble PL, Morse C, Henter ID, Kruger J, Zhang B, Suomi SJ, Svenningsson P, Pike VW, Winslow JT, Leibenluft E, Pine DS, Innis RB. Fluoxetine Administered to Juvenile Monkeys: Effects on the Serotonin Transporter and Behavior. *Am J Psychiatry* 2014;171(3):323–331.
34. De Bellis MD, Geraciotti TD Jr, Altemus M, Kling MA. Cerebrospinal fluid monoamine metabolites in fluoxetine-treated patients with major depression and in healthy volunteers. *Biol Psychiatry*. 1993 Apr 15-May 1;33(8-9):636-41.
35. Sheline Y, Bardgett ME, Csernansky JG. Correlated reductions in cerebrospinal fluid 5-HIAA and MHPG concentrations after treatment with selective serotonin reuptake inhibitors. *J Clin Psychopharmacol*. 1997 Feb;17(1):11-4.
36. Lundmark J, Wålinder J, Alling C, Manniche PM, Dalgaard L. The effect of paroxetine on cerebrospinal fluid concentrations of neurotransmitter metabolites in depressed patients. *Eur Neuropsychopharmacol*. 1994 Mar;4(1):1-6.
37. Anderson GM1, Bennett AJ, Weld KP, Pushkas JG, Ocame DM, Higley JD. Serotonin in cisternal cerebrospinal fluid of rhesus monkeys: basal levels and effects of sertraline administration. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002 Apr;161(1):95-9.

38. Anderson GM, Barr CS, Lindell S, Durham AC, Shifrovic I, Higley JD. Time course of the effects of the serotonin-selective reuptake inhibitor sertraline on central and peripheral serotonin neurochemistry in the rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005 Mar;178(2-3):339-346.